



УДК 611.018.4:612.753:615.849.19]-092.9

## ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ ЛАЗЕРА З ТЕРМОЕФЕКТОМ НА СТРУКТУРУ КОМПАКТНОЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА РЕГЕНЕРАЦІЮ КІСТКИ У БІЛИХ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

*Шимон В.М., Кубаш В.І., Стойка В.В.*

*ДВНЗ «Ужгородський національний університет», м. Ужгород*

### **Вступ**

Остеомієліт – це важкий інфекційно-запальний процес, що розвивається після відкритих переломів довгих кісток, оперативного лікування закритих переломів кісток або вогнепальних переломів, що супроводжується ураженням кісткового мозку і кісткової тканини. Ця патологія становить 7–12 % в структурі гнійно-хірургічної інфекції та до 6 % серед захворювань опорно-рухової системи [3, 4]. У разі остеомієліту зафіксовано високий рівень інвалідизації, що досягає від 50 до 90 %.

В останні роки в лікуванні остеомієліту використовують хірургічні методи механічної остеоперфорації, лазерні технології та інші, в сполученні з антибіотиками широкого спектру дії [10].

Антимікробна фотодинамічна терапія є таким методом лікування, в якому за допомогою лазерної системи активізується клітинний метаболізм, що призводить до загибелі бактерій [8, 9].

Найбільшого поширення в лікуванні остеомієліту набули щадні методи декомпресійної остеоперфорації свердлом електродрелі або спицею Кіршнера в поєднанні з дренажуванням параосальних просторів [3, 5]. Однак травматичність виконуваного втручання спонукала до пошуку нових малоінвазивних технологій, серед яких вивчають можливості застосування для остеоперфорації високоінтенсивних лазерів ближнього інфрачервоного діапазону [6, 7]. Однак необхідні фундаментальні дослідження для розширення аспектів застосування методу лазерної термотерапії на основі поширеного вивчення його дії на кісткову тканину, кістковий мозок та регенерацію кістки.

### **Мета дослідження**

Дослідити вплив різних режимів лазера з термoeфектом на структуру кісткової тканини, кістковий мозок та регенерацію кістки у білих лабораторних щурів.

### **Матеріали і методи**

Експериментальні дослідження були проведені на 20 білих лабораторних щурах 6-місячного віку в 2-х серіях експерименту:

1 серія – відтворення дефекту в діяфізі стегнової кістки (контроль);

2 серія – відтворення дефекту в діяфізі стегнової кістки та дія лазера (дослід).

Тваринам контрольної та дослідної груп проводили перфорацію кістки стоматологічним бором 2 мм в діяфізарному відділі (1 та 2 серії). У дослідних групах тварин додатково на тлі перфорації кістки через дефект впливали діодним лазером високої інтенсивності «Ліка-хірург» виробництва Черкаського підприємства «Фотоніка Плюс» (довжина хвилі 980 нм, потужність 10–18 ват). Світлодіодом діяли локально на ділянки ендоосту. На фоні дії лазера досліджували регенерацію відтвореного дефекту в діяфізі стегнової кістки.

Щурів виводили з експерименту на 7 та 28 добу шляхом передозування наркотичного препарату.

Підготовку матеріалу для гістологічного дослідження проводили керуючись рекомендаціями Д.С. Саркісова. Матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, проводили по спиртах (від 50 до 96 о), суміші Нікіфорова (1 частина спирту +1 частина ефіру для наркозу), містили в целоїдин. Зрізи (6–10 мкм) після забарвлення гематоксиліном та еозином вивчали та фотографували під мікроскопом AxioStar Plus.

Дослідження на тваринах виконані з урахуванням Європейських вимог (Страсбург, 1986 г.), Директиви Ради Європи 86/609 ЕЕС (1986г.) [2] та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [1]. Протокол дослідження було затверджено Комітетом з біоетики ДУ «ІПХС ім. проф. М.І. Ситенка НАМНУ».

### Результати досліджень

У результаті експерименту виявлено, що на 7-у добу дослідження у разі контактної дії на ендосту кортексу серединної частки діяфіза стегнової кістки ділянки термодії відрізнялися. Деякі з них були представлені заглиби-

ною, що мала еліпсоїдну форму з пухкими краями, яка заповнена набряковою рідиною (рис. 1). Остеоцити, що розташовані в кортексі безпосередньо до ділянки дії лазера, загинули, про що свідчать порожні лакуни. У кісткових каналах виявлені кровоносні судини з поодинокими клітинними елементами. Тріщин та секвестрів у кортексі не виявлено. Поряд з порушеною ділянкою кортексу розташовувалися вогнища деструктивних тканин, можливо фрагменти кістки та кісткового мозку. Площа вражень кісткового мозку була значно більшою порівняно з кортексом та розширювалась за межі пошкодженого ендосту (рис. 2).

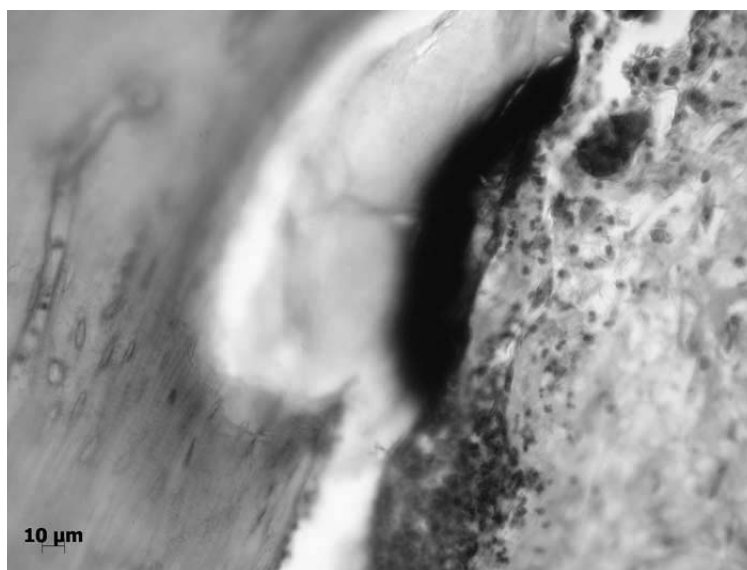


Рис. 1. Мікрофото з гістологічного препарату. Ділянка діяфіза стегнової кістки (ендост) після термодії лазера. В кортексі лакуни без остеоцитів. Судинні канали з поодинокими клітинами. 2 дослідна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. Зб. 400.



Рис. 2. Мікрофото з гістологічного препарату. Ділянка кісткового мозку в діяфізі стегнової кістки після дії лазера. Вогнища деструкції. 2 дослідна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. Зб. 100.



В кістково-мозковому каналі виявлено скупчення клітин кісткового мозку з ознаками деструкції, фібринову сітку з низько диференційованими сполучнотканинними клітинами (рис. 2).

Визначали також ділянки з формуваннями ретикулофіброзної тканини з високою щільністю фіброblastів. Навколо залишків деструктивно змінених тканин після дії лазера запального процесу не виявлено. У цих ділянках були розташовані фіброblastи різної зрілості (рис. 3).

На відстані в кістково-мозковому каналі червоний кістковий мозок був без ознак ушкодження.

Крім деструктивних ділянок в зоні кортексу зі сторони ендосту було виявлено присутність заглибинь, заповнених остеобластами (рис. 4. А, Б), що свідчить про активізацію остеогенезу в зоні дії лазера.

Періост був потовщений за рахунок остеогенного шару, я якому розташовувалися остеобласти.

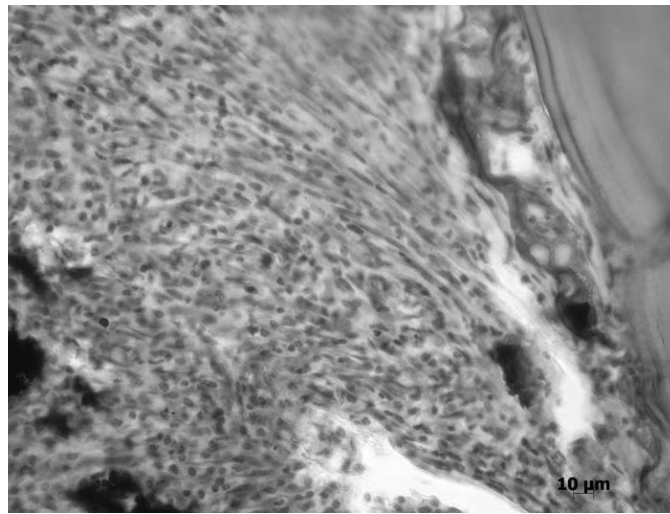
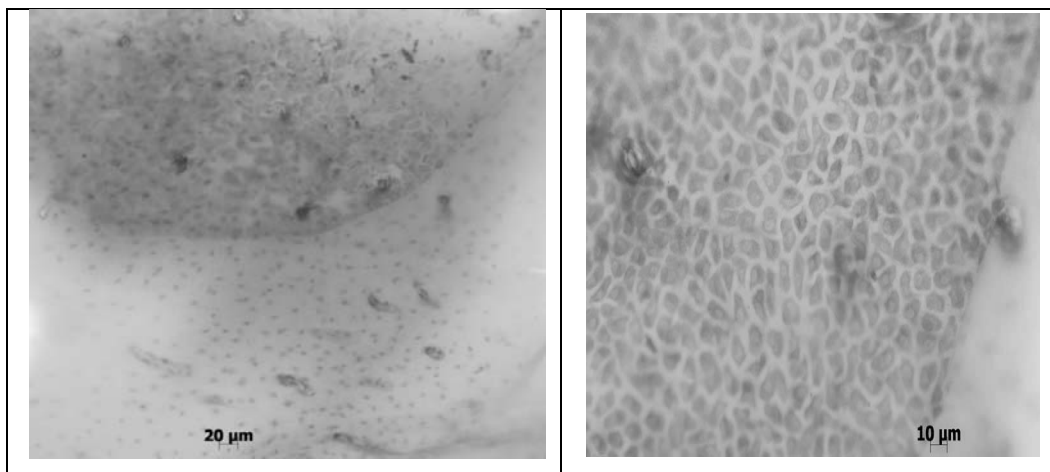


Рис. 3. Мікрофото з гістологічного препарату. Ділянка дії лазера. Ретикулофіброзна тканина. Ділянка деструкції кісткового мозку. 2 дослідна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. Зб.100.



**А**

**Б**

Рис. 4. А, Б. Мікрофото з гістологічного препарату. Ділянка діафізу стегнової кістки після термодії лазера заповнена остеобластами. 2-а дослідна серія. 7 доба. А) Зб. 200. Б) Фрагмент рис. А. Остеоцити. Зб. 400. Гематоксилін та еозин.

У кортексі поблизу ділянки впливу лазера (на відстані 4 мм від зони впливу)

деструктивних порушень не виявлено (рис. 5).

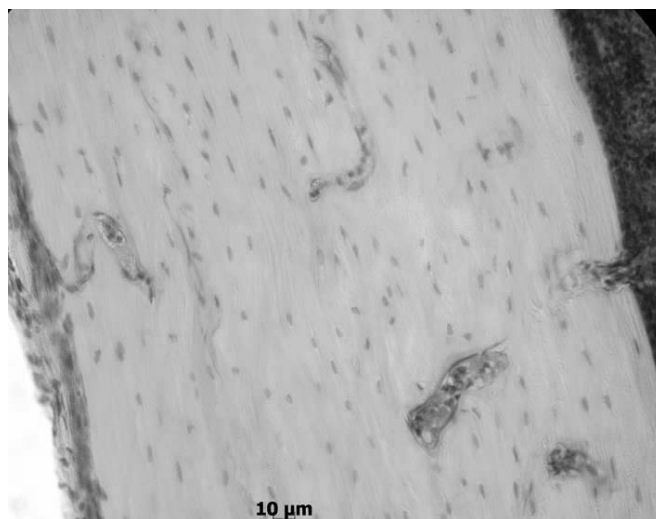


Рис. 5. Мікрофото з гістологічного препарату. Фрагмент кортексу діяфіза стегнової кістки щура (4 мм від зони дії лазера). Висока щільність остеоцитів. Кісткові канали з судинами без патологічних порушень. 2 дослідна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. Зб. 400.

Кортекс виконаний компактною кісткою, щільність остеоцитів на його поверхні була високою, в кісткових каналах присутні судини без патологічних порушень. Кістковий мозок зберігає характерну організацію. Однак у періоді зафіксовано розширення остеогенного шару, що свідчить про реактивні зміни внаслідок дії лазера.

В контрольній групі тварин (без дії лазера) у ділянці дефекту у крайових відділах материнської кістки зафіксовано формування кісткових трабекул із підвищеною щільністю остеобластів (рис. 6). Центральні ділянки дефекту були заповнені фіброретикулярною тканиною та скупченнями остеобластів, що формують остеоїд.

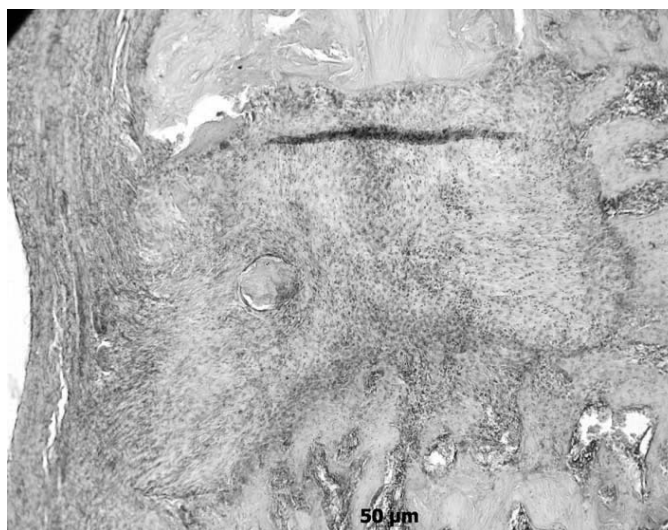
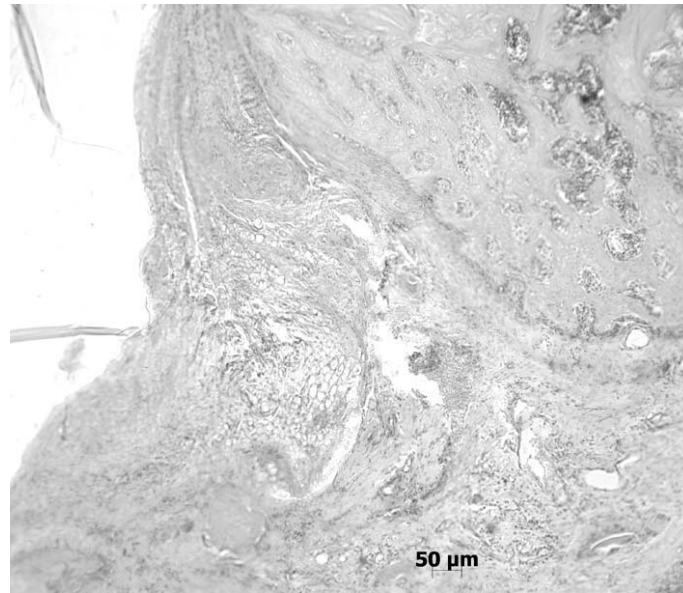


Рис. 1. 6. Новоутворені кісткові трабекули в крайових відділах дефекту. Центральні ділянки дефекту були заповнені фіброретикулярною тканиною. Скупчення остеобластів по краю новоутворених кісткових трабекул. 1-а контрольна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. Зб. 100.

В дослідній серії в ділянці дефекту площа, яку займала фіброретикулярна тканина, була значно більшою порівняно з контролем. Крім того, поряд з фіброретикулярною ткани-

ною виявлено поля грануляційної тканини з підвищеною щільністю недиференційованих клітин та кровоносних судин з розширеними просвітами (рис. 7).



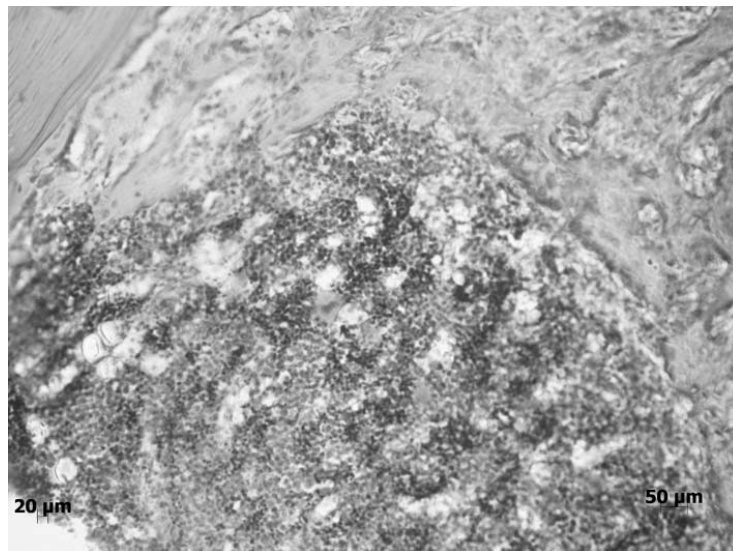


*Рис. 7. Новоутворені кісткові трабекули в крайових відділах дефекту. Центральні ділянки дефекту були заповнені фіброретикулярною та грануляційною тканинами з судинами з розширеними просвітами. 2-а дослідна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. Зб. 100.*

### **28 доба дослідження**

В контрольній та дослідній серіях кістковий дефект був заповнений кістковою тканиною, яка щільно з'єднувала фрагменти материнської кістки. Однак, якщо в контрольній

серії у ділянці кістковомозкового каналу, прилеглого до зони дефекту, був червоний кістковий мозок, то в дослідній серії виявлено провізорний кістковий регенерат, що розташовувався в кістковомозковому каналі.



*Рис. 8. Мікрофото з гістологічного препарату. Новоутворені кісткові трабекули в кістковомозковому каналі. Ділянки червоного кісткового мозку. 2-а дослідна серія. 28 доба. Гематоксилін та еозин. Зб. 100.*

За морфометричними дослідженнями (табл. 1) було встановлено, що на 7 добу в регенератах дослідних тварин площа новоутвореної кісткової тканини була меншою на

1,7 разу порівняно з дефектами контрольної групи щурів. На наступні терміни дослідження достовірних відмінностей площі кісткової тканини в дефектах щурів не зафіксовано.



Таблиця 1

Площа (%) кісткової тканини у відтворених діафізарних дефектах ( $M \pm m$ )

Терміни дослідження	Контрольна група	Дослідна група	P
	Площа (%) кісткової тканини в дефекті	Площа (%) кісткової тканини в дефекті	
7 доба	13,98±0,385	8,1±0,52	P < 0,001
28 доба	75±1,19	71,8±2,28	P > 0,05

Примітка: P – достовірність між контрольною та дослідною групою на 7 добу.

Таким чином, проведено морфологічне дослідження дії лазера контактним способом на діафізарний відділ стегнової кістки через кортикальний дефект. Виконання цього дослідження, по-перше, дало змогу відтворити морфогенетичні зміни в кістки та кістковому мозку, що мають місце після дії лазера з термічним ефектом. Доведено, що досліджений лазер має локальну деструктивну дію у разі обробки на періостальній або ендостальній частині діафіза. Це важливо в умовах остеомієліту для санації ділянок після хірургічного втручання з метою видалення вогнищ запалення. Встановлено, що вже на 7 добу відбувається відновлення ушкоджених ділянок кістки за рахунок формування губчастої кісткової тканини. В умовах дослідження кісткового мозку, розташованого в кістковомозговому каналі, після деструктивної дії лазера на локальних ділянках, виявлено локальне заміщення таких ділянок фіброретикулярною тканиною з поступовим відновленням кісткового мозку.

Регенерація кістки в ділянки діафіза після дії лазера на 7-му добу відрізняється від контролю поширеними ділянками фіброретикулярної тканини як в діафізарній, так і метафізарній ділянках. Однак, на 28 добу статистично достовірних відмінностей у перебігу репаративного остеогенезу не виявлено. Оскільки цей процес триває від стадії проліферації та диференціації клітин до початку формування тканиноспецифічних структур, це необхідно враховувати в клінічній практиці у разі про-

гнозу регенерації кістки та дозованого навантаження на кінцівку.

По-друге, на основі проведеного дослідження встановлено, що зона ураження кістки локальна, в той час як у кісткового мозку – розширена. У разі використання лазера для лікування остеомієліту рентгенологічно фіксують вогнища деструкції кістки та проводять хірургічне лікування. Проведене дослідження встановило, що площа дії лазера в кістковому мозку значно більша, ніж у кістки, що дає змогу поширити площу санації ділянки запалення в умовах остеомієліту.

### Висновки

Дія лазера контактним способом на діафізарний відділ стегнової кістки через кортикальний дефект приводить до локальної деструктивної дії у разі обробки періостальної та ендостальної частини діафіза з поступовим заміщенням кісткової тканини. Регенерація кістки в ділянки діафіза після дії лазера на 7-му добу відрізняється від контролю поширеними ділянками фіброретикулярної тканини в діафізарній ділянці кістки. Однак терміни дослідження на 28 добу статистично достовірних відмінностей у перебігу репаративного остеогенезу не виявлено. Оскільки цей процес триває від стадії проліферації та диференціації клітин до початку формування тканиноспецифічних структур, це необхідно враховувати в клінічній практиці у разі прогнозу регенерації кістки та дозованого навантаження на кінцівку.

**Резюме.** Робота присвячена вивченню впливу різних режимів лазера з термoeфектом на структуру кісткової тканини, кістковий мозок та регенерацію кістки у білих лабораторних щурів. Результати дослідження базуються на експериментальному дослідженні, проведеному на 20 білих лабораторних щурах 6-місячного віку в 2-х серіях експерименту. Отримані дані свідчать про стимуляцію регенерації кістки в ділянки діафіза після дії лазера на 7-му добу.

**Ключові слова:** остеомієліт, лазер, кісткова тканина, регенерація.



## **Influence of different laser modes with thermoelectric effect on compact bone tissue structure and regeneration of bone in white laboratory rats.**

*V.M. Shymon, V.I. Kubash, V.V. Stoika*

**Summary.** The work is devoted to the study of the influence of different modes of laser with a thermoeffect on the structure of bone tissue, bone marrow and bone regeneration in white laboratory rats. The results of the study are based on an experimental study conducted on 20 white laboratory rats of 6 months of age in 2 series of experiments. The obtained data testify to stimulation of bone regeneration in the area of the diaphysis after exposure to the laser on the 7th day.

**Key words:** osteomyelitis, laser, bone tissue, regeneration.

### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. – (Міжнародний документ Ради Європи). – Режим доступу: [http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994\\_137](http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137).
2. Закон України №3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
3. Крочек И.В., Привалов В.А., Сергийко С.В. Лазерная остеоперфорация в лечении острого гематогенного остеомиелита. 10-летний опыт / И.В. Крочек, В.А. Привалов, С.В. Сергийко // Педиатр. – 2013. – Т. IV, №4. – С. 8-17.
4. Привалов В.А., Крочек И.В., Абушкин И.А., Шумилин И.И., Лаппа А.В. Лазерная остеоперфорация в лечении воспалительных и деструктивных заболеваний костей // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2009. – Т. 2, 1. – С. 19–28.
5. Привалов, В.А., Крочек, И.В., Лаппа, А.В. Лазерная остеоперфорация в лечении остеомиелита. – Челябинск: Изд-во «Челябинская государственная медицинская академия», 2010. – С. 272.
6. Araujo V.F., Silva L.I., Meireles A., Rosa C.T., de Rosa Gioppo N.M., Jorge A.S., Kunz R.I., Ribeiro L.F.C., Brancalhão R.M.C., Bertolini G.R.F. (2013). Effects of Low-Level Laser Therapy, 660 nm, in Experimental Septic Arthritis. *Rheumatology*, Article ID 341832, 8.
7. Fang C.H., Tsai P.I., Huang S.W., Sun J.S. et al. (2017). Magnetic hyperthermia enhance the treatment efficacy of peri-implant osteomyelitis. *BMC Infectious Diseases*, 17(516), 1–12. DOI 10.1186/s12879-017-2621-4
8. João Alves dos Reis Júnior. (2012). Antimicrobial photodynamic therapy in chronic osteomyelitis induced by *Staphylococcus aureus*: An in vitro and in vivo study. *AIP Conference Proceedings*, 1486 (113).
9. Kaya G.S., Kaya M., Gürsan N., Kireççi E., Güngörmüş M., Balta H. (2011). A Possible Mechanism for Treating *Staphylococcus aureus*-Induced Chronic Osteomyelitis in Rats Using 808-nm Light. *Photomedicine and Laser Surgery*, 29 (12), 789–790.
10. Pande K.C. (2015). Optimal management of chronic osteomyelitis: current perspectives. *Orthopedic Research and Reviews*, 2015 (7), 71–81. DOI <https://doi.org/10.2147/ORR.S50753>